

## 論文内容の要旨

論文提出者氏名 金子真美

## 論文題名

Regenerative effects of basic fibroblast growth factor on restoration of thyroarytenoid muscle atrophy caused by recurrent laryngeal nerve transection

## 論文内容の要旨

音声は、社会生活を送る上で最も重要なコミュニケーションツールの一つである。音声障害は、本人の精神的ダメージだけではなく、社会からの隔絶、職業の喪失にもつながりかねない重大な問題となる。音声障害の原因となる多くの疾患に対しては、音声手術などの治療法が確立されているが、反回神経麻痺に伴う声帯萎縮に対しては未だ有効な治療法が確立されておらず、臨床上の問題となっている。

反回神経麻痺に伴う声帯萎縮は、声帯筋の萎縮が主たる原因である。筋萎縮に由来する症状に対し、喉頭枠組み手術、披裂軟骨内転術、声帯注入術といった静的再建が行われているが、これらは筋萎縮や筋緊張の低下そのものを改善させることはできない。神経再建は神経癒着など手術手技的に困難な場合があり、また音声改善に時間を要する。よって発声時に必要な声帯緊張を調整するためには、声帯筋の収縮を得るための筋再生を促す低侵襲な治療を開発する必要がある。骨格筋は再生能力の高い組織であり、筋衛星細胞が筋再生に大きな役割を担う。筋衛星細胞は休止期には成熟筋線維の基底膜内に存在しているが、刺激や損傷、塩基性線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor: bFGF)、肝細胞増殖因子 (Hepatocyte growth factor) などの成長因子が与えられると、筋芽細胞に分化する。筋芽細胞は増殖・分化し、既存の筋線維に融合し筋へ分化する。bFGF は筋組織の再生、切断された神経終末の活性化にも関与することが報告されており、筋萎縮改善に働きかける可能性が示唆されているが、麻痺声帯筋に対する再生効果は不明である。本研究では、ラット反回神経切断後の声帯筋萎縮モデルを用いて bFGF を声帯筋に注入し、声帯筋再生による筋萎縮の改善効果を検討した。

まず、筋・神経再生評価を行った。声帯筋萎縮モデルに対して bFGF を週 1 回の間隔で計 4 回注入した。最終注入後、4 週目に喉頭を摘出し、筋線維の断面積比と神経再生評価を行った。評価法は、まず声帯筋の単一筋線維 30 本分の断面積を HE 染色切片上で計測し、正常側に対する処置側の割合を算出した。次いで、神経筋接合部を構成する神経終末及びアセチルコリン受容体の発現の変化を検討した。神経終末は Synaptophysin に対する抗体を用いて、アセチルコリン受容体は  $\alpha$ -Bungarotoxin を用いて同定し、正常側に対する処置側の割合を算出した。その結果、声帯筋断面積は bFGF 投与群で有意に拡大した。神経終末やアセチルコリン受容体の発現も bFGF 投与群で有意に上昇した。

次いで、筋衛星細胞の動態を調べた。同じ声帯筋萎縮モデルを作成し、bFGF を声帯筋に

注入した。筋衛星細胞が活性化される期間が短いため、最終注入後 3 日もしくは 7 日目に喉頭を摘出した。評価は、筋衛星細胞の接着タンパク質である **M-cadherin** と、筋芽細胞のマーカである **MyoD** に対する抗体を用いて検討した。その結果、**M-cadherin** 及び **MyoD** の発現は **bFGF** 投与群で有意に増加し、**bFGF** による筋衛星細胞の組織学的評価においても再生効果が確認された。

内因性の **bFGF** は、疑核やシュワン細胞、軸索、筋管で発現していることが確認されている。また外因性 **bFGF** による再生効果は、シュワン細胞や軸索、アセチルコリン受容体や筋で報告されている。今回、麻痺声帯筋に対し **bFGF** を投与した結果、神経再生及び筋再生の両ルートが確認できた。今回の手法は麻痺声帯筋に対する再生医療の初めての試みであり、低侵襲かつ簡便に行え、効果も十分見込める新しい治療法に値するものと考えられた。今後、臨床応用化への更なる期待が高いことを示すものである。